DOI:10.11931/guihaia.gxzw202302001

白及根腐病病原菌的鉴定及抑制效应研究

马晓雅[1,2]，路茜[1,2]，吴巧芬[2]，杨燕妮[2]，夏科[2]，赵志国[2]，郑文俊[1*]，仇硕[2*]

（1．桂林理工大学 旅游与风景园林学院，广西 桂林 541006；2. 广西壮族自治区·中国科学院广西植物研究所，广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室，

广西 桂林 541006）

摘要：为了鉴定白及块茎腐烂病的病原菌以及筛选抑制病原菌的中药材提取物，该文利用常规组织分离法对病原菌进行分离，通过形态学和分子生物学技术对致病菌株进行鉴定；观察了 7 种中药材提取物对病原菌的抑菌效果。结果表明：（1）从感病叶片、叶鞘及块茎共分离得到 14 株真菌和 4 株细菌，病原菌室内和室外回接表明菌株 GF-1 致病症状与田间一致，致病率均达到 100%。（2）经形态学鉴定，菌株 GF-1 为附球菌属（*Epicoccum*）病原菌，菌落白色绒絮状，圆型；菌丝匍匐向外、向上生长，气生，无色，有隔膜，有分枝，具有分生孢子和厚垣孢子。（3）菌株 GF-1 的 ITS 序列（全长 522 bp）与 Genbank 中已登录的甘蔗的高粱附球菌（*E. sorghinum*，MN493119.1）序列一致性最高，达 99.62%，与已报道的白及叶斑病致病菌高粱附球菌（*E. sorghinum*, MF948994.1）的一致性为 98.88%。（4）培养基中含有 0.1~0.2 g·mL^{-1} 的青钱柳等 7 种中药材提取物能够完全抑制 GF-1 菌落的生长；当培养基中含有 0.05 g·mL^{-1} 的提取物时，肉桂和丁香提取物仍能完全抑制菌落的生长。综上分析认为，引起白及根腐病的致病菌为附球菌属高粱附球菌 *E. sorghinum*，培养基中含有 0.1~0.2 g·mL^{-1} 的青钱柳等 7 种中药材提取物能够完全抑制致病菌的生长。

关键词：白及，根腐病，病原菌分离和鉴定，高粱附球菌，中草药提取物

中图分类号：S436.8

Identification and inhibiting effect of pathogens that caused tuber rot of *Bletilla striata*

MA Xiaoya[1,2], LU Xi[1,2], WU Qiaofen[2], YANG Yanni[2], XIA Ke[2], ZHAO Zhiguo[2], ZHENG Wenjun[1*], QIU Shuo[2*]

（1. *College of Tourism ＆ Landscape Architecture, Guilin University of Technology,* Guilin 541006, Guangxi, China; 2.*Guangxi, China Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences*; *Guangxi Key Laboratory of Plant Functional Phytochemicals and Sustainable Utilization,* Guilin 541006, Guangxi, China）

Abstract: In order to identify the pathogens that caused tuber rot in *Bletilla striata* and study the inhibiting effects of herbal extracts on pathogens, the pathogens that caused tuber rot of *Bletilla striata* were isolated using usual tissue isolation. Morphological and molecular biological techniques were used to identify the strains. And seven herbal extracts were used to study the

收稿日期：2023-06-20

基金项目：广西重点研发计划（桂科 AB18294026）；广西科学院园艺植物种质资源创新及利用创新研究团队启动经费项目（CQZ-E-1919）；桂林市创新平台和人才计划（20210102-3）；桂林市技术应用与推广计划（20220135-1）。

第一作者：马晓雅（1997-），硕士研究生，主要从事园林植物栽培及景观设计研究，（E-mail）1207092435@qq.com。

[*]**通信作者：**郑文俊，博士，教授，主要从事民族乡土景观及风景旅游规划，（E-mail）149480860@qq.com。

共同通信作者：仇硕，博士，副研究员，主要从事园艺植物种质资源创新与利用研究，（E-mail）qiushuo001@163.com。

inhibiting effects on the pathogen. The results were as follows:（1） A total of 14 fungi and 4 bacteria were isolated from diseased leaves, leaf sheaths and tubers. But only strain GF-1 caused disease, whose symptoms consistent with those in the field. The incidences of GF-1 disease reinoculated in the field and laboratory were 100％, respectively.（2）GF-1 was identified as a memmber of *Epicoccum*, and its colonial morphology is a circular form, with white mycelium, prostrate on the medium, aerial, diaphragms and branches. There are conidia and chlamydospores.（3）At last, the sequence of internal transcribed spacer (ITS) region of GF-1 were analyzed, the length was 522 bp. The sequence was compared with other species in the GenBank and reached 99.62% similarity to *E. sorghinum* (MN493119.1) isolated form *Sorghum*, which was closer than others, including *E. sorghinum* (MF948994.1) isolated form leaves of *B. striata*.（4）GF-1 could be fully inhibited when the medium contained 0.1- 0.2 g·mL^{-1} extracts that extracted from 7 Chinese herbal, respectively. And it also could be fully inhibited by 0.05 g·mL^{-1} of *C. cassia* or *Syringa oblate*. In summary, the pathogen that caused tuber rot in *Bletilla striata* was identified as *E. sorghinum.* And GF-1 could be fully inhibited cultivated on the medium which contained 0.1-0.2 g·mL^{-1} herbal extracts, e.g.: *C. cassia*, *S. oblate, Cyclocarya paliurus, B. striata, Houpoea officinalis, Illicium verum* or *Cnidium monnieri*.

Key words: *Bletilla striata*, tuber rot, pathogen isolation and identification, *Epicoccum sorghinum,* Chinese herbal extracts

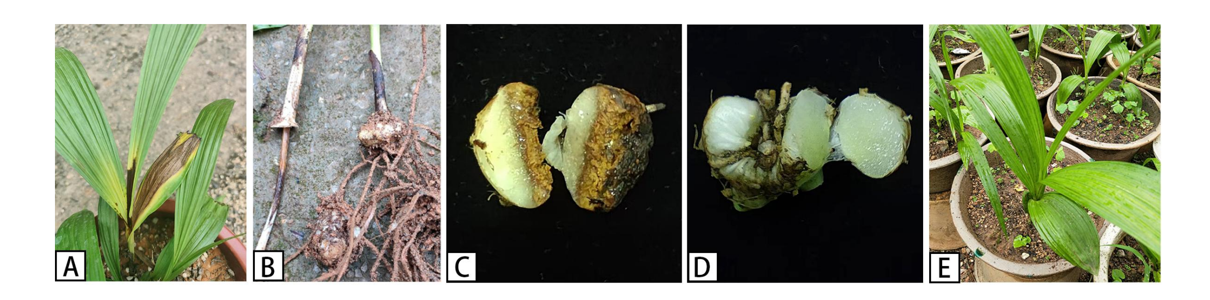
白及（*Bletilla striata*）为兰科白及属(*Bletilla*)多年生草本植物，别名白芨、连及草、利知子、甘根等。白及属植物全球有6种，均分布在亚洲；其中中国有4种，分别为白及、小白及、华白及、黄花白及（中国植物志，1999）。白及具有止血补肺、生肌止痛之效，用于咯血、吐血、慢性胃溃疡及肿瘤、外伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂等症（中华人民共和国药典，2020）；白及叶态优美、花大色艳、花期长，可用在园林景观中布置花坛、花境或花海(石晶，2010；朱娇等，2020)。白及还可制作粘合剂、浆丝绸、面膜或涂料以及酿酒等(刘光斌等，2005；Gouvg et al., 2009)。因此，白及是一种兼具药用、观赏和工业价值的多用途植物。

近年来，随着市场需求量的逐年上升，种植规模不断扩大，各类病害频繁爆发，如叶斑病（柯尚艳等，2018；Zhou et al., 2018）、叶褐斑病和锈病等（宋莉莎，2019），严重影响了白及的产量、质量以及观赏价值。根腐病是白及常见病害之一，多发生在 6 月到 8 月，地下块茎出现褐色病斑，内部呈黑褐色软腐状，并伴有腥臭味，整个根部维管束被破坏，失去输水能力；地上茎秆、叶片基部和叶鞘先表现为褐色干枯状长条形病斑，边缘黄色晕染状，后期则干枯至死，病株易连根茎从土中拔出，发病块茎呈木质化纤维。整体发病率 15%左右，危害较大，一旦受害将严重影响药材的品质和产量。该病害易与叶斑病混淆（Zhou et al., 2018）。目前报道，引起白及根腐病的病原菌主要是尖孢镰刀菌（*Fusarium oxysporum*）和腐皮镰刀菌（*F. solani*）（孙乐乐等，2013；宋莉莎，2019），但这些根腐病并未报道地上部症状。鉴于以上情况，引起广西地区白及根腐病的病原菌是否与叶斑病致病菌一致或者与根腐病致病菌一致还不清楚。中药材提取物具有低污染、低毒、低残留的特点，广泛用于中药材病害防治，如厚朴和蛇床子提取液分别对黄芪和五味子根腐病具有很好的防治效果（刘莹等，2009；马伟等，2010），但这些中药材提取物对白及病害的防治效果还需要验证。该文以白及根腐病为研究对象，采用常规组织分离法分离不同组织部位病原菌，通过形态学结合分子生物学技术鉴定病原菌；最后采用菌丝生长速率法测定中药材提取液对病原菌的抑制效果。以期明确鉴定广西地区根腐病的病原菌，并筛选能够抑制病原菌的中药材提取物，旨在为白及根腐病防治提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2021 年 6 月，于桂林市雁山区（经度 110.309，纬度 25.0604）采集白及病株，初步判断为叶斑病或根腐病。该病害多发生在 6 月中旬到 8 月初，整体发病率 15%左右，发病初期地上部无症状，地下部根系和块茎先出现褐色病斑，块茎切开后呈黑褐色软腐状，并伴有腥臭味；随着病情的加深，当地下块茎出现 1/3~1/2 腐烂时，根系完全腐烂，地上茎秆开始出现褐色，叶片尖部和基部出现不规则病斑，病斑中央深褐色，边缘黄褐色至淡黄色，直至萎蔫，茎秆容易被抽出（图 1）。



A. 田间病株；**B**. 病株茎秆；**C**. 病株块茎；**D**. 健康块茎；**E**. 健康植株。
A. Infected plant in the field; **B**. Stalks of infected plant in the field; **C**. Tubers of infected plant in the field; **D**. Health tubers; **E**. Health plants.

图 1　白及根腐病症状
Fig. 1 Symptoms of tuber rot in *Bletilla striata*

1.2 试验方法

1.2.1 病原菌的分离

参照常规组织分离法（方中达，1998），从发病植株上采集病叶、叶鞘和地下块茎，冲洗干净，在病健交界处切下约 5 mm × 5 mm 的小块组织，75%的酒精处理 30 s，再用 0.1%浓度的升汞溶液消毒 60 s，无菌水冲洗晾干，无菌滤纸吸干水分后移置于 PDA 培养基上，每个培养皿（Φ= 90 mm)）放 3～4 块组织，25 ℃恒温条件下培养 3 d，观察并对其进行纯化培养。采用平板划线法进行菌种纯化，即在无菌操作台中用接种环挑取菌丝，在 PDA 平板上划线，进行编号后，继续放入 25 ℃ 恒温条件下培养，纯化至出现单个的菌落即可。

1.2.2 病原菌的致病性测定

（1）室内回接：把三年生的白及组培苗健康植株采回实验室，采取创伤接种法进行接种。用无菌水冲洗叶片和块茎，无菌滤纸吸干表面水分，在超净工作台内操作，步骤如下：用解剖刀将叶片背面轻轻刮伤（约 5 mm × 5 mm），块茎则采用刺伤接种法，用直径 5 mm 的打孔器在菌落边缘打取菌饼，将带有菌丝那一面覆盖在叶片和块茎的伤口处，以接 PDA 培养基的健康白及叶片和块茎为对照组，每个叶片处理 3 个伤口，粘贴菌饼，重复 3 次；每个块茎从中间切开，各处理 1 个伤口，粘贴菌饼，重复 3 次。样品平铺于带有湿润吸水纸的平盘内，做保湿处理，6 d 后统计感病数量和发病率，发病率= 感病数 /接种总数×100%。

（2）田间回接：选择室内回接致病的菌株，进一步田间回接验证。选择健康植株的叶片，解剖刀轻轻割伤叶片上表面，面积约 5 mm × 5 mm，用直径 5 mm 的打孔器取培养基中生长良好的病原菌菌饼，带有菌丝的一面贴向叶片，利用透明胶布粘附到已接种的叶片部位；以无菌的 PDA 培养基作对照。每个处理 3 株，各 1～2 片叶子，每张叶片粘贴 3 个菌饼，共计 9 个接种部位。保鲜袋罩住 24 h，6 d 后统计感病数和发病率，发病率 = 感病数/接种总数×100%。

（3）致病菌重新分离: 对田间回接致病的植株进行再次分离，验证是否符合柯赫式法则，分离方法同 1.2.1。

1.2.3 病原菌的形态学鉴定

对田间回接致病的病原菌，挑取生长良好的病原菌菌落，采用插片培养法置于含有 PDA 培养基的一次性培养皿中，25 ℃ 恒温条件下培养，3~5 d 后观察菌丝体、分生孢子的形态，leika 正置式显微镜 DM2500 拍照，同时测量分生孢子大小（长、宽）及菌丝直径。查阅文献资料进行初步鉴定。

1.2.4 病原菌的分子生物学鉴定

刮取菌丝，用液氮研磨法破壁，采用 CTAB 法提取病原菌菌丝的 DNA。采用真菌通用引物对 ITS1/ITS4 进行 PCR 扩增，获得的 DNA 片段，进行 1%的琼脂糖凝胶电泳检验。PCR 产物的纯化和测序由武汉擎科创新生物有限科技公司完成，将所得序列与 GenBank (http: //www.ncbi.nlm.nih.gov) 中核酸数据进行 BLAST 分析，利用 Vector NTIAdvance 11 进行比对，通过 MEGA5.0 进行 UPGMA 分析生成系统发育树。通过同源性分析对病原菌种进行分子水平鉴定（李若瑜等，2002）。

1.2.5 中药材提取物对根腐病病原菌的抑制效应

把 7 种备试中药材于烘箱中 60 ℃烘干，粉碎，过 40 目筛（孔径 0.45 mm），密封后于－20 ℃保存待用。乙醇作为溶剂，采用 3 次震荡浸提法提取（韩建华，2002），合并 3 次滤液进行减压浓缩至质量浓度为 1 g・mL^{-1}，密封后于 4 ℃冰箱保存。采用菌丝生长速率法（吴文君，1988）测定中药材提取液对白及根腐病致病菌的抑制效果。取质量浓度 1 g・mL^{-1} 的中药提取液加入 PDA 培养基中，摇匀，参照前人浓度设计梯度制成浓度分别为 0.05、0.1 和 0.2 g·mL^{-1} 的带药平板（马伟等，2010；刘莹等，2019），以加入无菌水的 PDA 培养基作空白对照。选用直径为 5 mm 的打孔器，打取菌落边缘的菌饼，接种于带药平板上，每组处理重复 3 次，25 ℃恒温培养。培养 48 h 后每隔 24 h 用十字交叉法测量菌落直径，连续记录 7 次结果，计算抑制生长率，抑制生长率(%)=（对照菌落直径-处理菌落直径）/（对照菌落直径-菌饼直径 5.0 mm）×100%。

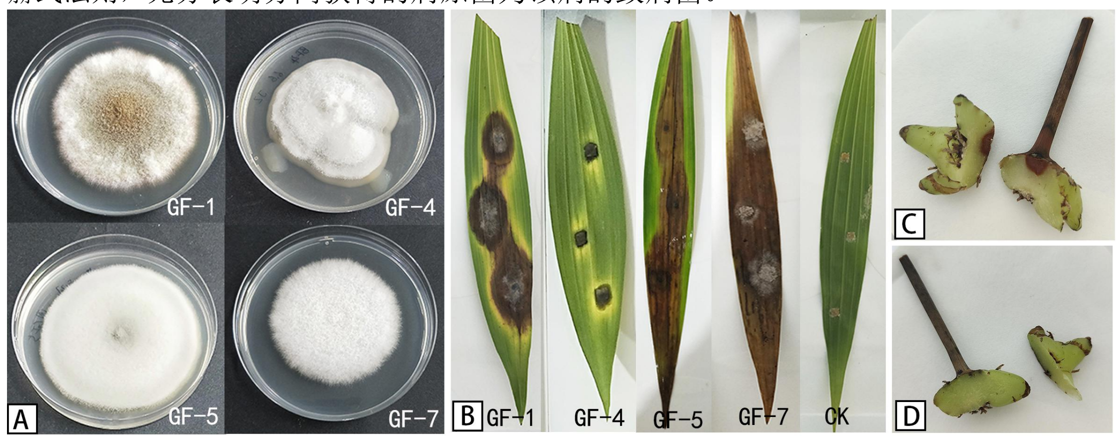
2 结果与分析

2.1 病原菌的分离

根据田间症状，初步判断为根腐病或叶斑病。从感病植株的叶片、叶鞘和块茎的病健交界处分别取样，分离病原菌，共分离出病原菌 18 株（真菌 14 株，细菌 4 株）。其中，从叶片中分离得到 2 株真菌和 1 株细菌；从叶鞘中分离得到 9 株真菌和 2 株细菌；从块茎中分离得到 3 株真菌和 1 株细菌。这说明分离的菌种相对较多且较为复杂，但不同组织部位均没有分离到霉菌。真菌编号为 GF-1~GF-14，细菌编号为 GB-1~GB-4，其中 GF-1 和 GF-7 在叶片、叶鞘以及块茎中均能分离得到。图 2:A 示部分分离的菌株。

2.2 病原菌的致病性测定

分别对 18 株菌株进行室内回接，接种 3 d 后观察发现真菌 GF-1、GF-4、GF-5 和 GF-7 出现较明显的致病症状（图 2.B），6 d 后统计发病率（表 1）。对室内接种发病率较高的 GF-1、GF-3、GF-4、GF-5 和 GF-7 等进行田间回接，发现仅 GF-1 接种部位呈现黑斑、有烧焦状、中间部位干枯（图 3.A），室内回接有明显的黄色晕斑（图 2.B：GF-1），切开根茎后有腐烂（图 2.C），这分别与田间采取病株时的病害症状基本一致；而其它菌株致病病斑和对照组没有继续扩大，或者无感病症状而接种部位干枯（图 3.B-E）。从接种 GF-1 的发病组织中重新分离获得的病原菌，经纯化培养后，与接种的病原菌完全一致，符合柯赫式法则，充分表明分离获得的病原菌为该病的致病菌。

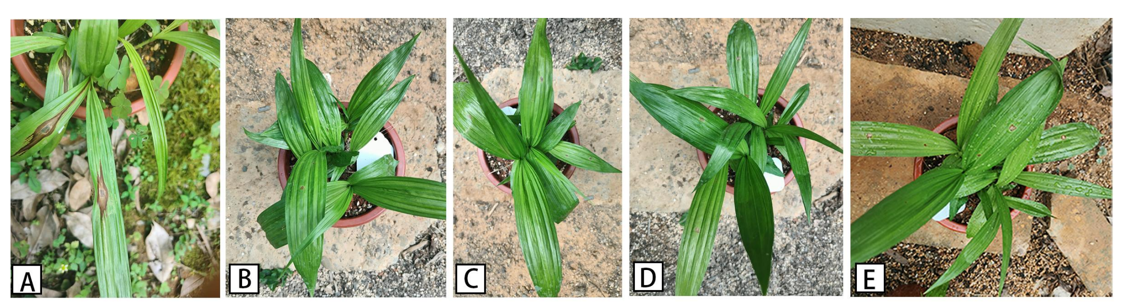


A. 分离的 4 个菌株；**B**. 4 个菌株室内回接；**C**. GF-1 室内回接块茎；**D**. 对照块茎。

A. 4 strains isolated in *B. striata*; **B**. Reinoculation of 4 strains in the room; **C**. Reinoculation of GF-1 in tubers; **D**. Control in tubers.

图 2 白及病原菌室内回接

Fig. 2 Reinoculation pathogen of *Bletilla striata* in the room



A. GF-I 田间回接；**B**. GF-4 田间回接；**C**. GF-5 田间回接；**D**. GF-7 田间回接；**E**. 田间回接对照。
A. Reinoculation of GF-1 in the field; **B**. Reinoculation of GF-4 in the field; **C**. Reinoculation of GF-5 in the field; **D**. Reinoculation of GF-7 in the field; **E**. Control in the field.

图 3 白及病原菌田间回接

Fig. 3 Reinoculation pathogen of *B.striata* in the filed

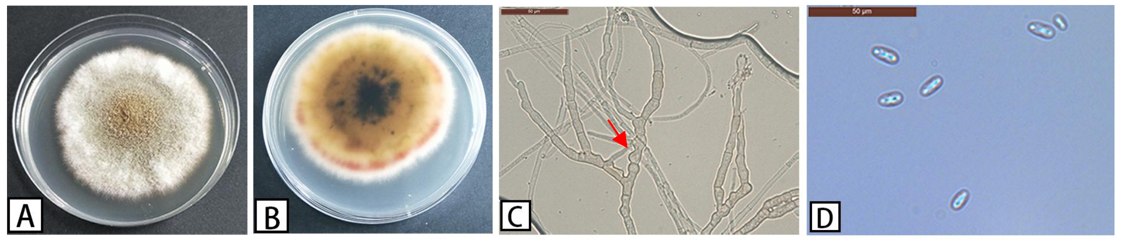
表 1 部分菌株接种白及叶片 6 d 后发病率

Table 1 Incidence in leaves of *Bletilla striata* after inoculated six days by some strains

菌株编号 Catalogue accession number	室内接种发病率 Incidence of reinoculation in the room （%）	田间接种发病率 Incidence of reinoculation in the field （%）
对照（CK）	0	0
GF-1	100	100
GF-3	66.7	0
GF-4	100	25
GF-5	100	33.3
GF-6	66.7	0
GF-7	100	40

2.3 病原菌形态学鉴定

病原菌 GF-1 在 PDA 培养基上，25 ℃恒温条件下培养 5 d 后，长出白色绒絮状菌落，菌丝匍匐向外、向上生长，气生，菌落絮状，白色，圆型，菌落背部中心褐色或黑褐色，周围绿褐色至黄褐色（图 4：A、B）。菌丝无色，生长较快，有隔膜，直径为 3.2～6.9 µm，其分生孢子梗多分枝；厚垣孢子为长方形或椭圆形，大小为 (6.5～9.6) µm×(6.5～7.1) µm，分生孢子散生，呈卵形，大小约为(5.3~8.9)µm×(1.4~3.6)µm（图 4：C、D）。菌落培养 5 d 后直径 5.2～7.0 cm（培养皿 Φ = 90 mm）。对照中国真菌志，并没有类似的真菌种类；查阅相关文献资料(Aveskamp et al.，2010)，初步判断 GF-1 病原菌为附球菌属病原菌。



A. 菌落正面；**B**. 菌落反面；**C**. 厚垣孢子；**D**. 分生孢子。标尺：**C** 和 **D** 示 50 µm。
A. Front of colony; **B**. Back of colony; **C**. Chlamydospore; **D**. Conidia. Scale bars：indicate 50 µm in **C** and **D**.

图 4 菌株 GF-1 形态观察

Fig.4 Morphological characteristics of strain GF-1

2.4 病原菌的 ITS 区的序列系统发育分析

将菌株 GF-1 的 ITS rDNA 的 PCR 扩增产物测序、校对、剪切和拼接，获得全长为 552 bp 的序列。将序列与 GenBank 中相关数据进行一致分析，结果表明菌株 GF-1 的 ITS 序列（TSB1G643013）与甘蔗的高粱附球菌（*E. sorghinum*，MN493119.1）序列一致性最高，为 99.62%，而与白及中分离的高粱附球菌（*E. sorghinum*、MF948994.1）序列一致性为 98.88%。将这些序列利用 MEGA5.1 构建系统进化树，该序列与甘蔗分离的高粱附球菌（*E. sorghinum*，MN493119.1）聚为同一族，亲缘关系最近，与已分离鉴定的白及高粱附球菌（*E. sorghinum*, MF948994.1）的亲缘关系相对较远，后者与烟草高粱附球菌（*E.*

sorghinum，KJ767080.1）聚为同一族，这可能是致病菌自身容易变异引起的，这些病原菌在分子进化方向上存在一定差异（图 5）。

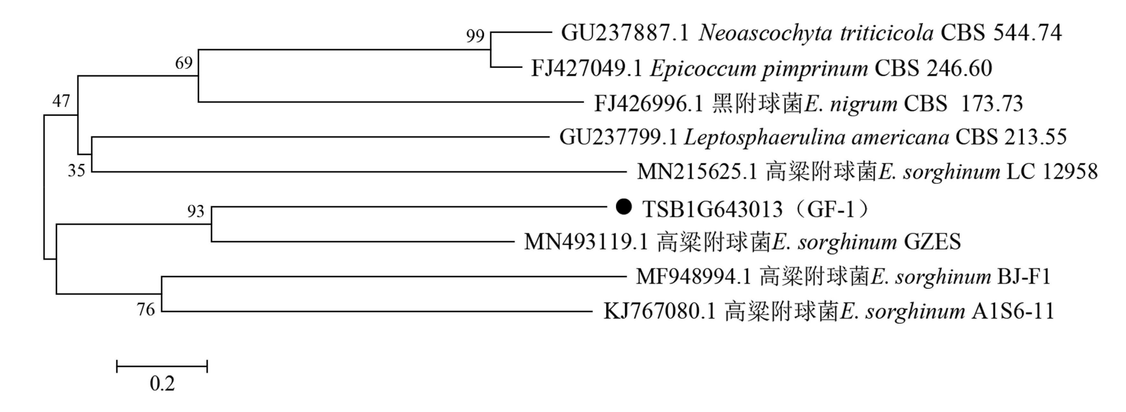


图 5　菌株 GF-1 及其近缘属种的聚类分析树状图

Fig.5 Phylogenetie tree of strain GF-1 and its homologus based on ITS sequences respectively

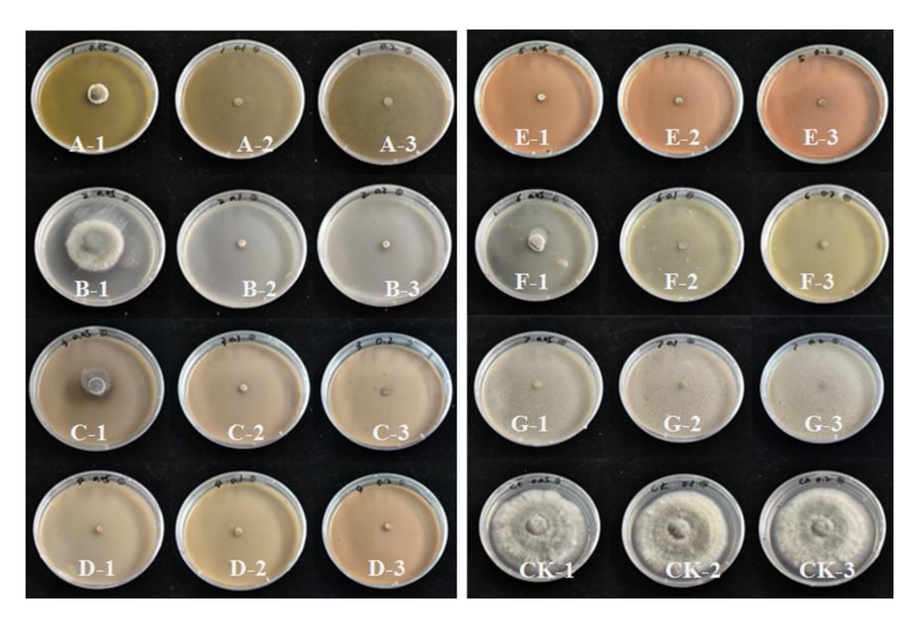
2.5 中药材提取物对白及根腐病致病菌的抑制效果

中药材提取物对根腐病致病菌的抑制效果见图 6 和表 2。与含无菌水培养的菌落（对照）相比，培养基中含有 0.1 和 0.2 g·mL^{-1}的 7 种中药材提取物能够完全抑制 GF-1 菌落的生长。当培养基中添加低浓度（0.05 g·mL^{-1}）的提取物时，肉桂和丁香提取物仍能完全抑制菌落的生长，八角提取物抑制菌的生长率达到 99.6%；而低浓度的青钱柳、白及、厚朴和蛇床子不能完全抑制菌落生长，菌落直径分别为 13.8、25.6、6.6 和 9.9 mm，抑制生长率分别为 82.4%、58.8%、96.8%和 90.2%。

表 2 不同中药材提取物对菌株 GF-1 的抑制效果

Table 2 Inhibiting effects of seven herbal extracts on the strain GF-1

中药材 Chinese traditional medicines	浓度 Density（g·mL^{-1}）	菌落直径 Diameter of colony（mm）	抑制生长率 Rate resisting（%）
青钱柳	0.05	13.8	82.4
Cyclocarya paliurus	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
白及	0.05	25.6	58.8
Bletilla striata	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
厚朴	0.05	6.6	96.8
Houpoea officinalis	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
八角	0.05	5.2	99.6
Illicium verum	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
肉桂	0.05	5.0	100.0
Cinnamomum cassia	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
蛇床子	0.05	9.9	90.2
Cnidium monnieri	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
丁香	0.05	5.0	100.0
Syringa oblata	0.10	5.0	100.0
	0.20	5.0	100.0
对照	0.05	55.0	0
CK	0.10	57.9	0
	0.20	55.0	0



图中数字 1、2、3 代表浓度，分别为 0.05、0.1、0.2 g·mL-1。A、B、C、D、E、F 和 G 分别代表青钱柳、白及、厚朴、八角、肉桂、蛇床子和丁香；CK 代表对照。

The number "1, 2, 3"represent the density of 0.05, 0.1 and 0.2 g • mL^{-1} respectively; The letters "A, B, C, D, E, F and G" represent *Cyclocarya paliurus, Bletilla striata, Houpoea officinalis, Illicium verum, Cinnamomum cassia, Cnidium monnieri* and *Syringa oblate* respectively; CK represent control.

图 6 中药材提取物对菌株 GF-1 的抑制生长

Fig. 6 Extract of different traditional Chinese medicines to the resisting of strain GF-1

3 讨论与分析

3.1 白及根腐病病原菌的鉴定

根腐病可由腐霉、镰刀菌、疫霉等多种病原菌侵染引起的一种病害。根腐病病原菌首先引起根部腐烂，造成根部水分和养分的吸收功能逐渐减弱，随后导致整株叶片发黄、枯萎，最后全株死亡。除了这些典型特征外，本文发现的白及根腐病还会出现茎基部和叶鞘出现褐色长条形斑块，这一特点与曾令祥等（2012）报道的丝核菌属病原菌（*Rhizoctonia sp.*）引起白及块茎腐烂病症状相似。根腐病发病率高，对药材产量和品质危害很大，目前已成为影响三七、白术、黄芪等多种药用植物生产的主要病害，并发现镰刀属真菌为主要病原菌（沈清清等，2014）。孙乐乐等（2013）报道，引起云南地区白及根腐病的病原菌是尖孢镰刀菌（*F. oxysporum*）和腐皮镰刀菌（*F. solani*），宋莉沙（2019）鉴定了贵州地区白及根腐病致病菌是腐皮镰刀菌（*F. solani*）。本文通过调查、致病菌分离，结合形态学和分子序列鉴定，发现引起广西桂林地区白及根腐病的致病菌与前人报道不同，鉴定为附球菌属真菌高粱附球菌（*E. sorghinum*）（Perelló et al., 2005; Aldo et al., 2010；Oliveira et al., 2017；朱香，2018；Zhou et al., 2018）。该病菌鉴定时间较晚，国内于 2018 年后才逐渐报道，引起多种园艺植物叶斑病、褐斑病或环斑病（Yu et al., 2019；Laurel et al., 2021）。该致病菌引起白及（*B. striata*）叶斑病（Zhou et al., 2018）的叶片出现褐色斑块，周围有黄色晕圈；而本研究发现该病菌首先引起白及地下块茎腐烂，有腥臭味，后期导致茎基部和叶鞘基部长条形灰褐色斑块，斑块中央呈干枯状、周围黄色晕圈；而分子序列聚类不是同一族，亲缘关系相对较远，这说明可能属于不同生理小种引起的不同病害。

3.2 中草药提取物对白及根腐病病原菌的抑制效应研究

化学农药常用于药用植物根腐病的防治，具有疗效快、操作方便、价格低廉等优点，但易造成农药残留量超标，影响药材品质；而植物源杀菌剂具有安全无毒害的作用，但控制药用植物根腐病的效果较慢，且易受环境影响（穆向荣等，2014）。丁香酚是丁香提取物的主要成分，通过干扰微生物的细胞膜结构起到抗菌作用（于未博，2020）。北细辛主要化学成分为萜类化合物，具有提高免疫力功能、抗菌等功效，蛇床子主要成分蛇床子素具有较好的速效性（马伟，2010；肖瑶，2019）。刘莹等（2009）发现厚朴主要活性成分

厚朴酚具有抗炎抗菌等作用。赵庆芳等（2011）发现同种物质丙酮溶液的抑菌效果明显好于水溶液。*E. sorghinum* 能分泌一种类似于苯乙酸的毒素，具有很强的致病性（朱香，2018），而且该病原菌寄主范围广泛，易感染葫芦科、豆科、十字花科、杨柳科、禾本科、马齿苋科、百合科及天南星科的植物（李润根等，2020），目前未见有关该致病菌的生物防治研究。本研究利用乙醇提取了 7 种中药材的提取物，观察了对白及致病病原菌的室内抑制作用，发现 0.1 和 0.2 g • mL^{-1} 的青钱柳、白及、厚朴、八角、肉桂、蛇床子及丁香提取物均完全抑制高粱附球菌（*E. sorghinum*）的生长，0.05g • mL^{-1} 的八角、肉桂及丁香提取物也基本完全抑制生长，抑制生长率达到 99.6%或 100%。因此，这些中药材提取物室内抑制菌的生长非常显著，但室外田间抑制效果以及施用浓度还有待进一步试验。

参考文献：

AVESKAMP MM, de Gruyter J, Woudenberg JHC, et al., 2010. Highlights of the Didymellaceae: A polyphasic approach to characterise Phoma and related pleosporalean genera[J]. Stud Mycol, 65: 1-60.

ALDO A, MLDE C, BARBOSA NETOI JF, et al., 2010. *Phoma sorghina*, a new pathogen associated with phaeosphaeria leaf spot on maize in Brazil[J]. Plant Pathol, 53: 259-259.

CHINESE PHANMACOPOEIA COMMISSION, 2020. Pharmacopoeia of the people'srepublic of china[S]. Beijing: China Med Sci Press. [国家药典委员会，2020 中华人民共和国药典一部[S]．北京：中国医药科技出版社．]

FANG ZD, 1998. Methodology for plant pathology[M] (3rd Ed). Beijing: China Ag Press. [方中达，1998. 植病研究方法[M]（第 3 版）．北京：中国农业出版社．]

FLORA OF CHINA EDITORIAL, 1999. Flora of China[M]. Beijing: Sci Press, 18: 50. [《中国植物志》编辑委员会．1999．中国植物志[M]．北京：科学出版社，18：50．]

GOUVG MR, RIBEIRO C, DE SOUZA CF, et al., 2009. Rheological behaviorof borate complex and polysaccharides[J]. Mater Sci Eng: C, (2): 607-612.

HAN JH, ZHU MJ, FENG JT, et al., 2002. Screening studies on fungistasis of 27 plants [J]. J Northwest A & F Univ(Nat Sci Ed), (6): 134-137. [韩建华，祝木金，冯俊涛，等，2002．27 种植物抑菌活性初步筛选[J]．西北农林科技大学学报（自然科学版），（6）：134-137．]

KE SY, YANG LY, CHEN L, et al., 2018. Isolation and Identification of a Fungal Disease from *Bletilla striata* [J]. J Yunnan Agri Univ(Nat Sci), 33(3): 405-409. [柯尚艳，杨林毅，陈潞，等，2018．白及植株上一种真菌病害的分离与鉴定[J]．云南农业大学学报（自然科学），33（3）：405-409．]

LAUREL N.R., DE TORRES R.L., MENDOZA JV.S. et al., 2021. Identification of *Epicoccum sorghinum* and its Effect on Stalk Sugar Yield[J]. Sugar Technol, 23, 1383-1392.

LI RG, XU D, LI ZQ, 2020. Preliminary Identifying on Host Range of *Lily* Pathogen *Epicoccum sorghinum*[J]. J Kunming Univ, 42(6): 64-67. [李润根，徐丹，李子奇，2020．百合病原菌高粱附球菌寄主范围的初步研究[J]．昆明学院学报，42（6）：64-67．]

LI RY, LI DM, YU J, et al., 2002. Recent advances in medical mycology [J]. J Peking Univ(Health Sci), 34(5): 559－563. [李若瑜，李东明，余进，等，2002．真菌与真菌病研究近况[J]．北京大学学报（医学版），34（5）：559-563．]

LIU GB, HUANG Z, HUANG CG, et al., 2005. Functions and application in cosmetics of *bletilla striata* (thunb)reichb.f[J]. Deterg Cosmet, 28(8): 22-24. [刘光斌，黄忠，黄长干，等，2005．天然植物白芨胶的功能及在化妆品中的应用[J]．日用化学品科学，28（8）：22-24．]

LIU Y, ZHOU RJ, FU JF, et al., 2009. Study on the extraction method of antibacterial active ingredients of *Houpoea officinalis*[J]. J Chin Med Mater, 32(5):791-794. [刘莹，周如军，傅俊范，等，2009．厚朴抑菌活性成分提取方法研究[J]．中药材，32（5）：791-794．]

MA W, WANG BQ, MA L, et al., 2010. Inhibitory Effect of Chinese Medicine Extracts on Pathogen of *Astragalus* Root Rot[J]. Bull Bot Res, 30(5): 634-636. [马伟，王宝秋，马玲，等，2010．中药提取物对黄芪根腐病菌的抑制效果[J]．植物研究，30（5）：634-636．]

MU XR, MA YY, YANG ZZ, et al., 2014. Research advance on the control of root rot disease of medical plants[J]. Ph Clin Chin Mater Med, 5(2): 5-8. [穆向荣，马逾英，杨枝中，等，

2014．药用植物根腐病防治的研究进展[J]．中药与临床，5（2）：5-8．]
OLIVEIRA RC, DAVENPORT KW, HOVDE B, et al., 2017. Draft Genome Sequence of Sorghum Grain Mold Fungus *Epicoccum sorghinum*, a Producer of Tenuazonic Acid[J]. Genome Announc, 5: e01495-01496.
PERELLÓ AE, MORENO MV, 2005. First report of *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema Dorenbosch & van Kest on wheat leaves (*Triticum aestivum* L.) in Argentina[J]. Mycopathologia, 159:75-78.
SHEN QQ, LIU F, HU Y, 2014. Research Progress of Pathogens of Root Rot Disease on Medicinal Plants[J]. North Hortic, (11): 187-190. [沈清清，刘芳，胡彦，2014．药用植物根腐病病原菌研究进展[J]．北方园艺，(11)：187-190．]
SHI J, 2010. Resources and Medicinal Utilization of *Bletilla* (*Orchidaceae*) [D]. Haikou: Hainan Univ. [石晶，2010．白芨属植物资源与利用[D]．海口：海南大学．]
SONG LS, 2019. Studies on Pathogen Identification and Disease Control of Major Fungal Diseaseson *Bletilla striata*[D]. Guiyang: Guizhou Univ. [宋莉莎，2019．白及主要真菌病害病原鉴定及防治研究[D]．贵阳：贵州大学．]
SUN LL, YANG YH, LIU JK, et al., 2013. *Bletilla striata* pseudobulb rot pathogen identification and its biological characteristic[J].J Chin Med Mater, 36(3): 341-345. [孙乐乐，杨永红，刘军凯，等，2013．白及根腐病病原鉴定和生物学特性研究[J]．中药材，36（3）：341-345．]
WU WJ, 1988. Introduction to experimental techniques in phytochemical protection [M]. Xi'an: Shaanxi Sci Tech Press. [吴文君，1988．植物化学保护实验技术导论[M]．西安：陕西科学技术出版社．]
XIAO Y. 2019. Improved method to obtain essential oil from the roots and rhizomes ofAsarum heteropoides Fr. Schmidt var. mandshuricum(Maxim.)Kitag. using microwave—assisted steam distillation and antifungal activity of the essential oil against Fusarium spp. in vitro [D]. Haerbin: NE For Univ. [肖瑶．2019．北细辛精油的微波水上蒸馏法提取及对黄芪根腐致病菌的抑制活性的研究[D]．哈尔滨：东北林业大学．]
YU L, SHE XM, LAN GB, et al., 2019. First report of leaf spot caused by *Epicoccum sorghinum* on Chinese flowering cabage (*Brassica parachinensis*) in China[J]. Plant Dis, 103(11): 2966.
YU WB. 2020. Inhibitory effect and mechanism of Eugenol on Panax notoginseng root rot fungi[D]. Kunming: Kunming University Science and Technology. [于未博．2020．丁香酚对三七根腐病真菌的抑制作用及其机理研究[D]．昆明：昆明理工大学．]
ZENG LX, YANG L, CHEN YY, et al., 2012. Investigation and integrated management on diseases and pests for Bletilla striata in Guizhou[J]. Guizhou Agric Sci, 40(7): 106-108. [曾令祥，杨琳，陈娅娅，等，2012．贵州中药材白及病虫害种类的调查与综合防治[J]．贵州农业科学，40（7）：106-108．]
ZHAO QF, CHEN J, LI QX, et al., 2011. Inhibition effects of different monomer substances on the growth of *Astragalus membranaceus* root rot[J]. J Lanzhou Univ(Nat Sci Ed), 47(2): 83. [赵庆芳，陈健，李巧峡，等，2011．不同物质对黄芪根腐病致病菌的抑制作用[J]．兰州大学学报（自然科学版），47（2）：83．]
ZHOU H, LIU PP, QIU S, et al., 2018. Identity of *Epicoccum sorghinum* causing leaf spot disease of *Bletilla striata* in China[J]. Plant Dis, 102(5): 1039.
ZHU J, HUANG WC, CAO JG, et al., 2020. Evaluation and Selection of *Bletilla* Species Through AHP Method[J]. Chin J Trop Crop, 41(8): 1553-1559. [朱娇，黄卫昌，曹建国，等，2020．我国白及属植物资源评价及其筛选[J]．热带作物学报，41（8）：1553-1559．]
ZHU X, 2018. Isolation of *Epicoccum sorlghinum* and resistance identification of multi-transgenes maize lines[D]. Wuhan: Huazhong Agric Univ. [朱香，2018．*Epicoccum sorghinum* 的分离及多基因转玉米株系的抗性鉴定[D]．武汉：华中农业大学．]